

請求の範囲

1. 生体組織または臍帯血から単離され、少なくとも心筋細胞に分化する能力を有する細胞。
2. 生体組織が骨髄である、請求項1記載の細胞。
3. 細胞が、多分化能幹細胞であることを特徴とする、請求項1または2記載の細胞。
4. 細胞が、少なくとも心筋細胞、血管内皮細胞に分化する能力を有する多分化能幹細胞である、請求項1～3のいずれか1項に記載の細胞。
5. 細胞が、少なくとも心筋細胞、脂肪細胞、骨格筋細胞、骨芽細胞、血管内皮細胞に分化する能力を有する多分化能幹細胞である、請求項1～4のいずれか1項に記載の細胞。
6. 細胞が、少なくとも心筋細胞、脂肪細胞、骨格筋細胞、血管内皮細胞、骨芽細胞、神経系細胞、肝細胞に分化する能力を有する多分化能幹細胞である、請求項1～5のいずれか1項に記載の細胞。
7. 細胞が、成体組織のいかなる細胞にも分化する能力を有する全能性幹細胞であることを特徴とする、請求項1～3記載の細胞。
8. 細胞がCD 117陽性およびCD 140陽性である、請求項1～7のいずれか1項に記載の細胞。
9. 細胞が、さらに CD 34陽性である、請求項8記載の細胞。
10. 細胞が、さらに CD 144陽性である、請求項9記載の細胞。
11. 細胞が、さらに CD 144陰性である、請求項9記載の細胞。
12. 細胞が、CD 34陰性である、請求項8記載の細胞。
13. 細胞が、さらに CD 144陽性である、請求項12記載の細胞。
14. 細胞が、さらに CD 144陰性である、請求項12記載の細胞。
15. 細胞が、さらに CD 14陰性、CD 45陰性、CD 90陰性、Flk-1陰性、CD 31陰性、CD 105陰性、CD 49b陰性、CD 49d陰性、CD 29陽性、CD 54陰性、CD 102陰性、CD 106陰性および CD 44陽性である、請求項10記載の細胞。
16. 細胞が、さらに CD 14陰性、CD 45陰性、CD 90陰性、Flk-1陰性、CD 31陰性、CD 105陰性、CD 49b陰性、CD 49d陰性、CD 29陽性、CD 54陰性、CD 102陰性、CD

106陰性および CD 44陽性である、請求項11記載の細胞。

17. 細胞が、さらに CD 14陰性、CD 45陰性、CD 90陰性、Flk-1陰性、CD 31陰性、CD 105陰性、CD 49b陰性、CD 49d陰性、CD 29陽性、CD 54陰性、CD 102陰性、CD 106陰性および CD 44陽性である、請求項12記載の細胞。

18. 細胞が、さらに CD 14陰性、CD 45陰性、CD 90陰性、Flk-1陰性、CD 31陰性、CD 105陰性、CD 49b陰性、CD 49d陰性、CD 29陽性、CD 54陰性、CD 102陰性、CD 106陰性および CD 44陽性である、請求項13記載の細胞。

19. Hoechst 33342を取り込まない、請求項1記載の細胞。

20. 請求項1～19のいずれか1項に記載の細胞から誘導される心筋細胞のみに分化誘導される心筋前駆細胞。

21. 心室筋細胞に分化する能力を有する、請求項1～20のいずれか1項に記載の細胞。

22. 洞結節細胞に分化する能力を有する、請求項1～20のいずれか1項に記載の細胞。

23. 生体組織または臍帯血がほ乳動物由来のものである、請求項1～22のいずれか1項に記載の細胞。

24. ほ乳動物がマウス、ラット、モルモット、ハムスター、ウサギ、ネコ、イヌ、ヒツジ、ブタ、ウシ、ヤギ、サルおよびヒトから選ばれる1種である、請求項23記載の細胞。

25. 細胞が、マウス骨髓由来多分化能幹細胞 BMSC(FERM BP-7043)である、請求項1～8のいずれか1項に記載の細胞。

26. 染色体DNAの脱メチル化により心筋細胞に分化する能力を有する、請求項1～25のいずれか1項に記載の細胞。

27. 染色体DNAの脱メチル化が、デメチラーゼ、5-アザシチジンおよびジメチルスルフォキシド(DMSO)からなる群から選ばれる少なくとも1種によるものであることを特徴とする、請求項26記載の細胞。

28. デメチラーゼが、配列番号1記載で表されるアミノ酸配列を有するデメチラーゼである、請求項27記載の細胞。

29. 胎児の心臓発生領域で発現している因子または胎児の心臓発生段階において心

筋細胞への分化に働く因子により心筋細胞への分化が促進される請求項1～28のいずれか1項に記載の細胞。

30. 胎児の心臓発生領域で発現している因子または胎児の心臓発生段階において心筋細胞への分化に働く因子がサイトカイン、接着分子、ビタミン、転写因子および細胞外基質からなる群から選ばれる少なくとも1種であることを特徴とする、請求項29記載の細胞。

31. サイトカインが血小板由来増殖因子(PDGF)、繊維芽細胞増殖因子8(FGF-8)、エンドセリン1(ET1)、ミドカイン(Midkine)および骨形成因子4(BMP-4)からなる群から選ばれる少なくとも1種である、請求項30記載の細胞。

32. PDGF が配列番号3または5で表されるアミノ酸配列、FGF-8 が配列番号64で表されるアミノ酸配列、ET1 が配列番号66で表されるアミノ酸配列、ミドカインが配列番号68で表されるアミノ酸配列、BMP-4 が配列番号70で表されるアミノ酸配列をそれぞれ有する、請求項31記載の細胞。

33. 接着分子がゼラチン、ラミニン、コラーゲンおよびフィブロネクチンからなる群から選ばれる少なくとも1種である、請求項30記載の細胞。

34. ビタミンがレチノイン酸である、請求項30記載の細胞。

35. 転写因子が、Nkx2.5/Csx、GATA4、MEF-2A、MEF-2B、MEF-2C、MEF-2D、dHAND、eHAND、TEF-1、TEF-3、TEF-5 および MesP1 からなる群から選ばれる少なくとも1種である、請求項30記載の細胞。

36. Nkx2.5/Csx が配列番号9で表されるアミノ酸配列、GATA4 が配列番号11で表されるアミノ酸配列、MEF-2A が配列番号13で表されるアミノ酸配列、MEF-2B が配列番号15で表されるアミノ酸配列、MEF-2C が配列番号17で表されるアミノ酸配列、MEF-2D が配列番号19で表されるアミノ酸配列、dHAND が配列番号21で表されるアミノ酸配列、eHAND が配列番号23で表されるアミノ酸配列、TEF-1 が配列番号25で表されるアミノ酸配列、TEF-3 が配列番号27で表されるアミノ酸配列、TEF-5 が配列番号29で表されるアミノ酸配列、MesP1 が配列番号62で表されるアミノ酸配列をそれぞれ有する、請求項35記載の細胞。

37. 細胞外基質が心筋細胞由来の細胞外基質であることを特徴とする請求項30記載の細胞。

38. 線維芽細胞増殖因子-2 (FGF-2) により心筋細胞への分化が抑制される請求項1～28のいずれか1項に記載の細胞。
39. FGF-2 が配列番号7または8記載のアミノ酸配列を有する FGF-2 である、請求項38記載の細胞。
40. 心臓に移植することにより心筋細胞または血管に分化する能力を有する請求項1～28のいずれか1項に記載の細胞。
41. 胚盤胞に移植すること、または心筋細胞と共培養を行うことにより、心筋に分化する能力を有する請求項1～28のいずれか1項に記載の細胞。
42. 核内受容体 PPAR- γ を活性化因子により脂肪細胞に分化する能力を有する請求項1～28のいずれか1項に記載の細胞。
43. 核内受容体 PPAR- γ の活性化因子がチアゾリジオン骨格を有する化合物であることを特徴とする請求項42記載の細胞。
44. チアゾリジオン骨格を有する化合物がトログリタゾン、ピオグリタゾン、ロジグリタゾンからなる群から選ばれる少なくとも1種である、請求項43記載の細胞。
45. 胚盤胞に移植すること、または脳または脊髄に移植することにより、神経系細胞に分化する能力を有する請求項1～28のいずれか1項に記載の細胞。
46. 胚盤胞に移植すること、または肝臓に移植することにより、肝細胞に分化する能力を有する請求項1～28のいずれか1項に記載の細胞。
47. 染色体 DNA の脱メチル化剤を用いて、請求項1～28のいずれか1項に記載の細胞から心筋を形成する方法。
48. 染色体 DNA の脱メチル化剤を用いて、請求項9記載の細胞から請求項12記載の細胞へ脱分化させる方法。
49. 染色体 DNA の脱メチル化剤を用いて、CD 117陰性および CD 140陽性の細胞から請求項8記載の細胞へ脱分化させる方法。
50. 染色体 DNA の脱メチル化剤が、デメチラーゼ、5-アザシチジンおよび DMSO からなる群から選ばれる少なくとも1種であることを特徴とする、請求項48および49記載の方法。
51. デメチラーゼが、配列番号1記載のアミノ酸配列で表されるデメチラーゼである、請

求項50記載の方法。

52. 胎児の心臓発生領域で発現している因子または胎児の心臓発生段階において心筋細胞への分化に働く因子を用いることを特徴とする、請求項1～28のいずれか1項に記載の細胞から心筋を形成する方法。

53. 胎児の心臓発生領域で発現している因子または胎児の心臓発生段階において心筋細胞への分化に働く因子が、サイトカイン、接着分子、ビタミン、転写因子および細胞外基質からなる群から選ばれる少なくとも1種であることを特徴とする、請求項52記載の方法。

54. サイトカインがPDGF、繊維芽細胞増殖因子8(FGF-8)、エンドセリン1(ET1)、ミドカイン(Midkine)および骨形成因子4(BMP-4)からなる群から選ばれる少なくとも1種である、請求項53記載の方法。

55. PDGFが配列番号3または5記載のアミノ酸配列、FGF-8が配列番号64のアミノ酸配列、ET1が配列番号66で表されるアミノ酸配列、ミドカインが配列番号68で表されるアミノ酸配列、BMP-4が配列番号70で表されるアミノ酸配列をそれぞれ有する、請求項54記載の方法。

56. 接着分子がゼラチン、ラミニン、コラーゲンおよびフィブロネクチンからなる群から選ばれる少なくとも1種である、請求項53記載の方法。

57. ビタミンがレチノイン酸である、請求項53記載の方法。

58. 転写因子が、Nkx2.5/Csx、GATA4、MEF-2A、MEF-2B、MEF-2C、MEF-2D、dHAND、eHAND、TEF-1、TEF-3、TEF-5 および MesP1 からなる群から選ばれる少なくとも1種である、請求項53記載の方法。

59. Nkx2.5/Csxが配列番号9で表されるアミノ酸配列、GATA4が配列番号11で表されるアミノ酸配列、MEF-2Aが配列番号13で表されるアミノ酸配列、MEF-2Bが配列番号15で表されるアミノ酸配列、MEF-2Cが配列番号17で表されるアミノ酸配列、MEF-2Dが配列番号19で表されるアミノ酸配列、dHANDが配列番号21で表されるアミノ酸配列、eHANDが配列番号23で表されるアミノ酸配列、TEF-1が配列番号25で表されるアミノ酸配列、TEF-3が配列番号27で表されるアミノ酸配列、TEF-5が配列番号29で表されるアミノ酸配列を有する、MesP1が配列番号62で表されるアミノ酸配列をそれぞれ有する、請求

項58記載の方法。

60. 細胞外基質が心筋細胞由来の細胞外基質であることを特徴とする請求項53記載の方法。

61. 核内受容体 PPAR- γ を活性化する因子を用いることを特徴とする、請求項1～28のいずれか1項に記載の細胞から脂肪細胞を分化させる方法。

62. 核内受容体 PPAR- γ の活性化因子がチアゾリジオン骨格を有する化合物であることを特徴とする請求項61記載の方法。

63. チアゾリジオン骨格を有する化合物がトログリタゾン、ピオグリタゾン、ロジグリタゾンからなる群から選ばれる少なくとも1種である、請求項62記載の方法。

64. 染色体 DNA の脱メチル化剤を有効成分として含有することを特徴とする心筋形成剤。

65. 染色体 DNA の脱メチル化剤がデメチラーゼ、5-アザシチジンおよび DMSO からなる群から選ばれる少なくとも1種である、請求項64記載の心筋形成剤。

66. デメチラーゼが、配列番号1記載のアミノ酸配列で表されるデメチラーゼである、請求項65記載の心筋形成剤。

67. 胎児の心臓発生領域で発現している因子または胎児の心臓発生段階において心筋細胞への分化に働く因子を有効成分として含有する心筋形成剤。

68. 胎児の心臓発生領域で発現している因子または胎児の心臓発生段階において心筋細胞への分化に働く因子が、サイトカイン、接着分子、ビタミン、転写因子および細胞外基質からなる群から選ばれる少なくとも1種であることを特徴とする、請求項67記載の心筋形成剤。

69. サイトカインが PDGF、繊維芽細胞増殖因子8 (FGF-8)、エンドセリン1 (ET1)、ミドカイン (Midkine)、骨形成因子4 (BMP-4) からなる群から選ばれる少なくとも1種である、請求項68記載の心筋形成剤。

70. PDGF が配列番号3または5記載のアミノ酸配列、FGF-8 が配列番号64のアミノ酸配列、ET1 が配列番号66で表されるアミノ酸配列、ミドカインが配列番号68で表されるアミノ酸配列、BMP-4 が配列番号70で表されるアミノ酸配列をそれぞれ有する、請求項69記載の心筋形成剤。

71. 接着分子がゼラチン、ラミニン、コラーゲンおよびフィブロネクチンからなる群から選ばれる少なくとも1種である、請求項68記載の心筋形成剤。

72. ビタミンがレチノイン酸である、請求項71記載の心筋形成剤。

73. 転写因子が、Nkx2.5/Csx、GATA4、MEF-2A、MEF-2B、MEF-2C、MEF-2D、dHAND、eHAND、TEF-1、TEF-3、TEF-5 および MesP1 からなる群から選ばれる少なくとも1種である、請求項68記載の心筋形成剤。

74. Nkx2.5/Csx が配列番号9記載のアミノ酸配列で表される、GATA4 が配列番号11記載のアミノ酸配列、MEF-2A が配列番号13記載のアミノ酸配列、MEF-2B が配列番号15記載のアミノ酸配列、MEF-2C が配列番号17記載のアミノ酸配列、MEF-2D が配列番号19記載のアミノ酸配列、dHAND が配列番号21記載のアミノ酸配列、eHAND が配列番号23記載のアミノ酸配列、TEF-1 が配列番号25記載のアミノ酸配列、TEF-3 が配列番号27記載のアミノ酸配列、TEF-5 が配列番号29記載のアミノ酸配列、MesP1 が配列番号62記載のアミノ酸配列でそれぞれ表される、請求項73記載の心筋形成剤。

75. 細胞外基質が心筋細胞由来の細胞外基質であることを特徴とする請求項68記載の心筋形成剤。

76. 請求項1～46のいずれか1項に記載の細胞を用いることを特徴とする、心臓疾患により破壊された心臓を再生する方法。

77. 請求項1～46のいずれか1項に記載の細胞を有効成分とする心臓再生薬。

78. 心臓の先天性遺伝子疾患での変異遺伝子に対する野生型遺伝子が導入された請求項1～46のいずれか1項に記載の細胞を用いることを特徴とする、先天性遺伝子疾患での変異遺伝子に対する野生型遺伝子を心筋へ特異的に輸送する方法。

79. 心臓の先天性遺伝子疾患での変異遺伝子に対する野生型遺伝子が導入された請求項1～46のいずれか1項に記載の細胞を有効成分として含有する心臓疾患治療薬。

80. 請求項1～46のいずれか1項に記載の細胞を免疫原として用いることを特徴とする、該細胞を特異的に認識する抗体を取得する方法。

81. 請求項80記載の方法で取得された抗体を用いることを特徴とする、請求項1～48のいずれか1項に記載の心筋細胞への分化能を有する細胞を単離する方法。

82. 請求項1～46のいずれか1項に記載の細胞を用いることを特徴とする、該細胞に

特異的な表面抗原を取得する方法。

83. 請求項1～46のいずれか1項に記載の細胞を用いることを特徴とする、該細胞を増殖する因子をスクリーニングする方法。

84. 請求項1～46のいずれか1項に記載の細胞を用いることを特徴とする、該細胞の心筋細胞への分化を誘導する因子をスクリーニングする方法。

85. 請求項1～46のいずれか1項に記載の細胞を用いることを特徴とする、該細胞を不死化する因子をスクリーニングする方法。

86. 請求項1～46のいずれか1項に記載の細胞にテロメラーゼを発現させることを特徴とする、該細胞の不死化方法。

87. テロメラーゼが、配列番号31記載で表されるアミノ酸配列を有するテロメラーゼである請求項86記載の方法。

88. テロメラーゼを発現させることにより、不死化させた請求項1～46のいずれか1項に記載の細胞を有効成分として含有する心臓疾患治療薬。

89. テロメラーゼが、配列番号31記載で表されるアミノ酸配列を有するテロメラーゼである請求項88記載の治療薬。

90. 請求項1～46のいずれか1項に記載の細胞を含んだ培養上清。

91. 請求項90記載の培養上清を用いることを特徴とする、請求項1～46のいずれか1項に記載の細胞を心筋細胞に分化誘導する方法。